

Expresión de la proteína de la cápside del virus de la artritis encefalitis caprina en *Pichia pastoris* para su uso como antígeno diagnóstico

Picotto LD¹, Fuentealba NA¹⁻², Sguazza GH¹, Bianchi DS¹, Echeverría MG¹⁻², Panei CJ¹⁻².

(1) Centro de Microbiología Básica y Aplicada (CEMIBA), Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires, Argentina. (2) CONICET, Argentina.

Objetivo

Expresar la proteína CA del virus de la artritis encefalitis caprina para su uso diagnóstico.

Introducción

El virus de la artritis encefalitis caprina (CAEV) produce inflamaciones crónicas y enfermedades multisistémicas de denuncia obligatoria en Argentina. El genoma del CAEV codifica para una proteína de cápside (CA) con epítopes inmunodominantes que inducen una fuerte respuesta inmunológica, por lo que se la utiliza en la elaboración de equipos de diagnóstico contra CAEV. No existen sistemas de diagnóstico contra CAEV comerciales elaborados en Argentina y los utilizados son importados con un elevado valor económico.

Materiales y métodos

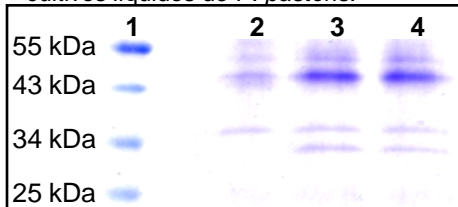
- Aislamiento del CAEV de líquido sinovial de cabras infectadas.
- Amplificación del gen CA mediante PCR.
- Ligación al vector pCR2.1 y transformación en *Escherichia coli*.
- Ligación al vector pPIC9 y transformación en *Pichia pastoris*.
- Cultivos de clones recombinantes de *Pichia pastoris*.
- Expresión de la proteína CA recombinante.
- Análisis de la proteína recombinante mediante SDS-PAGE.
- Análisis de la proteína recombinante mediante Western blot.
- Purificación de la proteína recombinante.



Figura 1: Inflamación articular por CAEV

Resultados

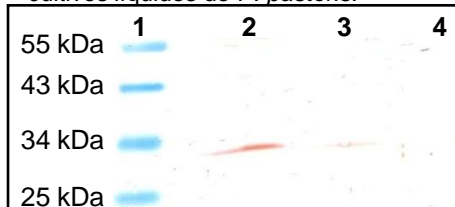
Figura 2: Análisis por SDS-PAGE de cultivos líquidos de *P. pastoris*.



Detalle:

- 1: Marcador de pesos moleculares.
- 2: *P. pastoris* sin transformar 48 hs inducción.
- 3: *P. pastoris* CA-1 48 hs inducción
- 4: *P. pastoris* CA-2 48 hs inducción

Figura 3: Análisis por western blot de cultivos líquidos de *P. pastoris*.



Detalle:

- 1: Marcador de pesos moleculares.
 - 2: *P. pastoris* CA-1 48 hs inducción.
 - 3: *P. pastoris* CA-2 48 hs inducción
 - 4: *P. pastoris* sin transformar 48 hs inducción.
- Ac 1° Suero caprino infectado 1:100.
Ac 2° Anti caprino c/HPR 1:1000.

Conclusiones

Se expresó la proteína CA recombinante del CAEV y fue reconocida por anticuerpos específicos en el western blot. Estudios futuros pondrán foco en el uso diagnóstico de la proteína obtenida con el fin de desarrollar el primer kit de diagnóstico nacional para la detección de CAEV.